

V18. PvMSP9_{E795-V808}: ANTIGENICIDADE E IMUNOGENICIDADE DO EPÍTOPO DE CÉLULA-B IDENTIFICADO IN SILICO NA PROTEÍNA-9 DE SUPERFÍCIE DE MEROZOÍTAS DE *Plasmodium vivax*.

Rodrigo Nunes Rodrigues da Silva¹; Isabela Ferreira Soares¹; Danielly Corrêa Moreira de Sequeira¹; Paula Mello de Luca¹; João Hermínio Martins da Silva²; Joseli de Oliveira Ferreira¹; Josué da Costa Lima Junior¹.

¹ IOC - Fiocruz, RJ;

² Fiocruz, CE.

INTRODUÇÃO A PvMSP9 é uma candidata potencial a vacina antimalárica. Além da sua localização, da habilidade de IgG específicas em inibir a invasão dos merozoítas e a alta imunogenicidade em modelos animais, estudos acerca da resposta imune humoral contra regiões da PvMSP-9 demonstraram que a região C-terminal, contendo dois blocos de repetição, é a mais imunogênica. Entretanto, seus epítomos de células B, bem como o potencial antigênico e imunogênico destas sequências imunodominantes, ainda permanecem desconhecidos.

OBJETIVO Identificar epítomos de células B desta região e avaliar o seu potencial antigênico e imunogênico.

METODOLOGIA Pela combinação de diferentes ferramentas de predição *In silico*, identificamos potenciais epítomos lineares na PvMSP9. A sequência de melhor score de predição (PVMSP9_{E795-V808}) foi produzida como peptídeo sintético e confirmada como naturalmente antigênica a partir do seu reconhecimento por anticorpos IgG de indivíduos expostos a infecção (ELISA). Para avaliação de sua imunogenicidade, a sequência foi sintetizada como peptídeos lineares em sua forma simples (PVMSP9_{E795-V808}) e conjugados a epítomos de células T (pL-PVMSP9_{E795-V808}; TT-PVMSP9_{E795-V808}), os quais foram emulsificados em Montanide ISA-51 e utilizados na imunização de camundongos BALB/c para avaliação do perfil de anticorpos IgG e subclasses (ELISA) e da resposta imune celular mediada por IFN- γ e IL-5 (Fluorospot) induzidos pelos peptídeos. Por fim, também foi verificado o reconhecimento da proteína nativa do parasita por anticorpos induzidos durante a imunização (IFI).

RESULTS Identificamos na região C-terminal da proteína PvMSP-9 três regiões potencialmente imunogênicas. Entretanto, um bloco de 5 repetições em

tandem da sequência EAAPENAEPVHENA, apresentou alta probabilidade de ser um epítipo imunodominante de célula B (BepiPred=1,59), aliado a elevadas probabilidades de estar inserida numa região desordenada (IUPRED=0,98) e numa região de interação (Anchor=0,92) da proteína. A antigenicidade desta sequência foi confirmada, visto que 56% de indivíduos respondedores para os blocos de repetição da PvMSP-9 apresentavam anticorpos específicos contra o peptídeo PVMSp9_{E795-V808}. Na avaliação de imunogenicidade, nossos dados demonstram que o peptídeo é também imunogênico em camundongos, induzindo altos títulos de anticorpos IgG específicos (1:6.400). Interessantemente, os grupos imunizados com polipeptídeos contendo epítomos de célula-T, pL-PVMSp9_{E795-V808} e TTPVMSp9_{E795-V808}, apresentaram maiores títulos de anticorpos (1:12.800; 1:51200), sugerindo que os epítomos de células T potencializam a resposta humoral. Corroborando esta hipótese, apenas camundongos imunizados com polipeptídeos apresentaram resposta celular com secreção de IFN- γ (552/336 SFCs/10⁶ cels) e IL5 (60/82 SFCs/10⁶ cels). Por fim, observamos que os anticorpos induzidos se mostraram capazes de reconhecer a proteína nativa do parasita em ensaios de imunofluorescência.

CONCLUSÃO Nossos dados confirmam a presença de um epítipo linear, antigênico e imunogênico na região repetitiva da PvMSP9, que, utilizado em polipeptídeos lineares sintéticos, pode representar uma nova alternativa nas estratégias vacinais contra *P. vivax*, induzindo altos níveis de anticorpos capazes de reconhecer a proteína nativa do parasita.

PALAVRAS-CHAVE Malária, epítomos lineares, vacina, imunologia.